Arnaldoa 24 (1): 289 - 300, 2017
http://doi.org/10.22497/arnaldoa.241.24112

ISSN: 1815-8242 (edición impresa)
ISSN: 2413-3299 (edición online)

Extracción de azúcares reductores totales ART por métodos físicos y químicos de planta de *Zea mays* (Poaceae) "maíz amarillo duro"

Extraction of total reducing sugars TRS by physical and chemical methods from plant of *Zea mays* (Poaceae) "hard yellow maize"

Karen Chauca Espinoza, César A. Grosso Gamboa, José Cabrera Matara, Carlos León Torres, Julio Arellano Barragán, Carlos Norberto Rodríguez & Orlando Pretel Sevillano

Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú. karen13688@gmail.com; agrossogamboa@gmail.com

Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia CC BY-NC 4.0: https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/

Recibido: 11-I-2017; Aceptado: 22-III-2017; Publicado: VI-2017; Edición online: 31-V-2017

Resumen

La lignina y la celulosa no siempre pueden emplearse en su forma natural, por ello deben hidrolizarse, y esto puede llevarse a cabo con enzimas, con ácidos o con bases; las dos últimas presentan la ventaja de mejorar la hidrólisis de la celulosa. La alternativa de emplear residuos lignocelulósicos en la producción de bioetanol y de proteína unicelular constituye hoy día una posibilidad altamente prometedora por su amplia disponibilidad en el mundo. En el presente trabajo se evaluaron los diferentes métodos de hidrólisis del residuo lignocelulósico de la planta de *Zea mays* (Poaceae) "maíz amarillo duro" con la finalidad de determinar el método más adecuado para la máxima obtención de azúcares reductores totales ART y poder así utilizarlos como sustrato en procesos fermentativos para la producción de proteínas unicelulares y bioetanol. La materia prima empleada fue planta seca y fraccionada de un tamaño de partícula <1,0 mm y se evaluó mediante métodos de hidrólisis químicos, físicos y la combinación de ambos, utilizando como soluciones extractantes agua destilada estéril, ácido sulfúrico e hidróxido de sodio al 1,25 %. La relación planta-solvente utilizada en todos los tratamientos fue de 1:10. La determinación de los azúcares reductores totales se realizó en los filtrados obtenidos de cada uno de los tratamientos empleando el método de Folin-Wu. Los resultados indican que la máxima concentración de azúcares reductores totales obtenidos corresponde a 82,94 y 84,18 g/L, y se obtienen después de realizar la hidrólisis mixta como resultado de la combinación del método físico y físico-químico.

Palabras clave: azúcares reductores totales, planta, hojas, tallo, *Zea mays*.

Abstract

The lignin and the cellulose can not always be used in their natural form, they need to be hydrolyzed, and it can be carried out by enzymes, with acids or with bases; the last ones have the advantage of improving the hydrolysis of the cellulose. The alternative of using lignocellulosic residues in the production of bioethanol and single-cell protein is today a highly promising possibility due to its wide availability in the world. In the present work, different methods of hydrolysis of the lignocellulosic residue of plant of *Zea mays* (Poaceae) "hard yellow maize" were evaluated with the purpose of determining the most appropiate method for the extraction of total reducing sugars TRS and then use them as substrate in fermentative processes for single-cell protein and bioethanol production. We used dry and fractionated plant with particle size <1.0 mm and we evaluated it through chemical and physical hydrolysis methods and the combination of both using as extractant solutions sterile distilled water, sulfuric acid and sodium hydroxide 1.25 %. The relation plant-solvent used in all treatments was 1:10. The determination of total reducing sugars was carried out in the filtrates obtained with each treatment using the Folin-Wu method. The results indicate that the maximum concentration of total reducing sugars obtained are 82.94 and 84.18 g/L, after carrying out the mixed hydrolysis as a result of the combination of physical and physico-chemical methods.

Keywords: total reducing sugars, plant, leaves, stem, *Zea mays*.

Introducción

La energía como una forma concreta de existencia de la materia posee diferentes manifestaciones, pero como elemento de los factores de producción constituye un componente fundamental para el desarrollo de las fuerzas productivas, toda vez que es la fuerza capaz de poner en movimiento, mediante procesos físicos y químicos, el conjunto de herramientas y mecanismos que satisface las necesidad del progreso, el trabajo y de la sociedad. Por otra parte, las posibilidades de obtención de energía se encuentra determinada por la viabilidad de la transformación de un recurso o la síntesis

o fusión de varios de estos, existiendo una gran preocupación internacional al respecto, fundamentalmente a partir de la crisis del petróleo de la década del 70, debido a que el origen de sus fuentes primarias son finitas, al provenir de combustibles fósiles (Mesa Garriga *et al.*, 2007).

La bioenergía es una de las fuentes de energía renovables que puede reemplazar en parte el uso de los combustibles fósiles. Contribuye a la diversificación de la energía de los países y a la apropiación de tecnologías de energías emergentes, reduciendo las emisiones de gas invernadero, la generación de empleo en el área rural y la sustitución de la importación de combustibles (Islas *et al.*, 2006).

El material lignocelulósico es atractivo por su bajo costo y alta disponibilidad en diversos climas y localidades, sin embargo, el principal impedimento para su utilización es la falta de una tecnología de bajo costo para degradar la fracción recalcitrante de la biomasa. Aunque existen métodos fisicoquímicos que permiten utilizar la biomasa en la producción de biocombustibles, una alternativa prometedora son los métodos biológicos que utilizan organismos celulolíticos para obtener azúcares fermentables (Lynd *et al.*, 2002).

Los sustratos más utilizados para producir biocombustibles son la "caña de azúcar" y el "maíz", siendo Brasil el mayor productor de bioetanol a partir de "caña de azúcar" y Estados Unidos que emplea el "maíz"; las fuentes celulósicas potencialmente utilizables son los desechos de la industria maderera, residuos de cosechas (bagazos), hierbas, aserrín y desechos sólidos de animales (Gray *et al.*, 2006).

La biomasa lignocelulósica tiene tres componentes principales, los polisacáridos, la lignina y otras sustancias que no forman parte de la pared celular. El componente polisacárido comprende carbohidratos de alto peso molecular (celulosa y hemicelulosa), que representan entre el 60-80% del total de los materiales lignocelulósicos. La celulosa, componente mayoritario de las paredes celulares de las fibras de madera, es un polímetro lineal de β-D-Glucosa con un peso molecular de aproximadamente 500,000. Las hemicelulosas están constituidas por polímetros de unidades de anhidroazúcares unidos por enlaces glucosídicos. Formados por más de un tipo de azúcar (hexosas o pentosas) y además presentan ramificaciones y sustituciones. Su papel es suministrar la unión entre la lignina y la celulosa. La lignina es un polímero tridimensional amorfo formado por la polimerización deshidrogenativa de unidades de fenilpropano ligados por diferentes tipos de enlaces que se alteran de manera desordenada. (Oliva, 2003).

Los residuos de las industrias importadoras de "maíz" han sido considerados como biomasa de tipo residual y fuente de energía renovable debido a su naturaleza lignocelulósica formada mediante el proceso de fotosíntesis. Sin embargo la utilización de estos residuos agrícolas como materia prima para procesos fermentativos, involucra como etapa fundamental la extracción de azúcares reductores o fermentables a partir de celulosa o hemicelulosa, razón por lo cual se hacen necesarios realizar pre-tratamientos que permitan modificar y destruir la compleja estructura del material lignocelulósico (Ballesteros, 2000).

Se han establecido diferentes métodos de pre tratamientos para poder liberar los azúcares presentes en los materiales lignocelulósicos. Estos incluyen métodos

físicos, químicos y biológicos, los cuales presentan eficiencia variada de acuerdo a la composición de la biomasa. Pero también presentan diferentes variables que facilitan los procesos de hidrólisis sin importar el tipo de material que se pretenda hidrolizar, dentro de las cuales se propone como primer paso cortar o moler el material lignocelulósico hasta obtener partículas finas de aproximadamente <1 mm de tamaño, lo cual produce no sólo rotura de las células, sino también reduce la cristalinidad y el grado de polimerización de la celulosa, facilitando de esta forma su degradación a monómeros (Doelle *et al.*, 1992).

El departamento de La Libertad es considerado como la primera productora de "maíz amarillo" duro superando a los departamentos de Lima, San Martín, Lambayeque, Ancash, Cajamarca, entre otros (Portal Informativo de La Libertad, 2009).

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar los métodos de hidrólisis de la planta de *Zea mays* (Poaceae) "maíz amarillo duro" con la finalidad de determinar el método de hidrólisis más adecuado para la extracción de ART que podría utilizarse posteriormente en procesos fermentativos, como para la obtención de biocombustibles (bioetanol).

El término biocombustible engloba a todos aquellos combustibles derivados de la biomasa vegetal. Se trata por tanto, de combustibles de origen vegetal que tienen características parecidas a las de los combustibles fósiles, lo que permite su utilización en motores sin tener que efectuar modificaciones importantes. Además, no contiene azufre, uno de los principales causantes de la lluvia ácida, ni contribuye a aumentar la cantidad de CO_2 a la atmósfera (Oliva, 2003).

Material y métodos

Obtención del material biológico:

La planta de *Z. mays* (Poaceae) "maíz amarillo duro" fue obtenida por donación de los campos de Moche, La Libertad, Perú.

Acondicionamiento del sustrato:

Se acondicionó la muestra mediante el proceso de secado y fraccionado. Se colocó la planta fresca sobre papel periódico para absorber el exceso de humedad durante 3 días a temperatura ambiente 23 +/- 2ºC. Una vez seca se fraccionó con ayuda de tijera y cuchillos, para facilitar su acondicionamiento en la estufa la cual fue sometida entre 80-90 ºC durante 4- 6 horas.

Luego, con la ayuda de un molino de acción mecánica la planta fue triturada hasta lograr pasar por un cedazo de 0,5 mm a 1,0 mm de poro.

Proceso de extracción de azúcares reductores totales ART de la planta de *Z. mays* (Poaceae) "maíz amarillo duro":

La planta se sometió a la acción de diferentes solventes con la finalidad de realizar la extracción de ART. Se utilizó la planta previamente tratada y H_2SO_4, NaOH y H_2O como solventes, en una relación planta-solvente de 1:10. La concentración de H_2SO_4 y NaOH utilizada fue de 1,25% en todo los tratamientos.

Los procesos de extracción se realizaron en un total de 15 tratamientos en los cuales se combinaron métodos químicos y físicos de extracción de la siguiente manera:

Tratamientos T_1, T_2 y T_3. Extracción de ART mediante hidrólisis química usando H_2SO_4 1,25% v/v, NaOH 1,25% p/v y H_2O respectivamente en un sistema de decocción por 30 minutos.

Tratamientos T_4, T_5 y T_6. Extracción de

ART mediante hidrólisis química-física usando H_2SO_4 1,25% v/v, NaOH 1,25% p/v y H_2O respectivamente en un sistema de autoclave a 120 °C, 15 atm. por 30 minutos.

Tratamientos T_7, T_8 y T_9. Extracción de ART, mediante hidrólisis mixta (química-física y química) en continuo, usando H_2SO_4 1,25% v/v, NaOH 1,25 % p/v y H_2O respectivamente.

Tratamientos T_{10}, T_{11} y T_{12}. Extracción de ART de la fracción no soluble de los tratamientos T_4, T_5 y T_6 Extracción por agotamiento mediante hidrólisis química, usando solamente H_2SO_4 1,25% v/v en cada tratamiento, en un sistema de decocción por 30 minutos.

Tratamientos T_{13}, T_{14} y T_{15}. Combinación de las fracciones solubles de los tratamientos (T_4+T_{10}, T_5+T_{11}, T_6 + T_{12}) respectivamente.

Cuantificación de los azúcares reductores totales ART extraídos de la planta de *Z. mays* (Poaceae) "maíz amarillo duro":

Los ART se cuantificaron utilizando el filtrado que se ha obtenido en los diferentes tratamientos (químico, químico-físico y mixto) empleándose para esto el método de Folin-Wu.

Análisis estadístico:

Los resultados obtenidos en los 15 tratamientos fueron analizados mediante el método de ANOVA. La determinación de homogeneidad y heterogeneidad de tratamientos se realizó mediante la prueba Duncan.

Resultados

Los resultados obtenidos de la extracción de ART de la planta de "maíz amarillo duro" por métodos químicos, físicos y químico-físicos se muestran en las siguientes tablas.

En la tabla 1, se pueden observar los diferentes tratamientos y los respectivos estimadores aritméticos, destacándose el tratamiento 7 ó T_7 con 84,18 g/L de ART, seguido del tratamiento 4 ó T_4 con 82,94 g/L de ART; pertenecientes al método de hidrólisis mixta e hidrólisis química-física respectivamente. En la tabla 2 se observa el análisis de comparación de medias por el método Duncan con una significancia de (α=0,05) destacándose los tratamiento N° 7 (T_7) y N° 4 (T_4). Así también, en el diagrama 1 muestra la similitud entre los tratamientos donde se destaca al tratamiento 7 ó T_7 y al tratamiento 4 ó T_4 como diferentes a todos los demás. Encontrándose también similitudes entre algunos de ellos.

TABLA 1: Valores originales y sus estimadores aritméticos de los azúcares reductores totales ART extraídos de la planta de *Zea mays* (Poaceae) "maíz amarillo duro" mediante hidrólisis química, física y químico-física

TRATAMIENTOS		REPETICIONES			ESTIMADORES				
Características		1	2	3	$\sum$	$\overline{X}$	S	S^2	C.V.
Código	Solución								
T_1	H_2SO_4	38.45	39.6	39.38	117.43	39.14	0.61	0.37	0.02
T_2	NaOH	2.1	1.03	1.61	4.74	1.58	0.54	0.29	0.34
T_3	H_2O	5.69	7.09	6.41	19.19	6.40	0.70	0.49	0.11
T_4	H_2SO_4	81.84	83.52	83.46	248.82	**82.94**	0.95	0.91	0.01
T_5	NaOH	3.03	2.63	2.87	8.53	2.84	0.20	0.04	0.07
T_6	H_2O	7.08	6.73	7.32	21.13	7.04	0.30	0.09	0.04
T_7	H_2SO_4	84.70	82.83	85.02	252.55	**84.18**	1.18	1.40	0.01
T_8	NaOH	2.76	3.64	1.72	8.12	2.71	0.96	0.92	0.35
T_9	H_2O	11.36	11.64	10.8	33.80	11.27	0.43	0.18	0.04
T_{10}	H_2SO_4	4.45	5.42	3.26	13.13	4.38	1.08	1.17	0.25
T_{11}	NaOH	4.68	3.80	2.73	11.21	3.74	0.98	0.95	0.26
T_{12}	H_2O	7.24	8.50	9.74	25.48	8.49	1.25	1.56	0.15
T_{13}	H_2SO_4	49.05	50.70	51.49	151.24	50.41	1.25	1.55	0.02
T_{14}	NaOH	3.23	3.64	4.03	10.90	3.63	0.40	0.16	0.11
T_{15}	H_2O	7.16	7.85	8.46	23.47	7.82	0.65	0.42	0.08

Leyenda: Lo valores en negrita muestran los valores más altos de ART promedio.

TABLA 2: Comparación de medias por el método de Duncan de los azúcares reductores totales ART extraídos de la planta de *Zea mays* (Poaceae) "maíz amarillo duro" mediante métodos químicos, físicos y físico-químicos.

Tratamientos		**Nº**	T_2	T_8	T_5	T_{14}	T_{11}	T_{10}	T_3	T_6	T_{15}	T_{12}	T_9	T_1	T_{13}	T_4	T_7
		Rango	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV
Nº	**Rango**	**Media**	1.58	2.71	2.84	3.63	3.74	4.38	6.4	7.04	7.82	8.49	11.27	39.14	50.41	82.94	84.18
T_2	I	1.58	-------														
T_8	II	2.71	**1.12**	-------													
T_5	III	2.84	**1.27**	**0.15**	---------												
T_{14}	IV	3.63	2.07	**0.95**	**0.8**	--------											
T_{11}	V	3.74	2.14	1.03	**0.88**	**0.076**	---------										
T_{10}	VI	4.38	2.77	1.66	1.51	**0.71**	**0.633**	---------									
T_3	VII	6.4	4.83	3.71	3.56	2.76	2.68	2.05	--------								
T_6	VIII	7.04	5.46	4.34	4.19	3.39	3.32	2.68	**0.63**	-------							
T_{15}	IX	7.82	6.25	5.13	4.98	4.18	4.10	3.47	**1.42**	**0.79**	-------						
T_{12}	X	8.49	6.93	5.81	5.66	4.86	4.78	4.15	2.10	1.47	**0.68**	-------					
T_9	XI	11.27	9.66	8.54	8.39	7.59	7.51	6.88	4.83	4.20	3.41	2.73	-------				
T_1	XII	39.14	37.46	36.34	36.19	35.39	35.32	34.68	32.63	32.00	31.21	30.53	27.80	-------			
T_{13}	XIII	50.41	48.71	47.59	47.44	46.64	46.56	45.93	43.88	43.25	42.46	41.78	39.05	11.25	-------		
T_4	XIV	82.94	81.12	80	79.85	79.05	78.97	78.34	76.29	75.66	74.87	74.19	71.46	43.66	32.41	-------	
T_7	XV	84.18	82.36	81.23	81.10	80.30	80.22	79.59	77.54	76.90	76.12	75.44	72.71	44.90	33.66	**1.25**	-------

Leyenda: Valores en negrita no presentan diferencias significativas ($\alpha = 0,05$).

DIAGRAMA 1: Resultados del test de comparación de promedios (Método de Duncan).

Nº	T2	T8	T5	T14	T11	T10	T3	T6	T15	T12	T9	T1	T13	T4	T7
Rango	**I**	**II**	**III**	**IV**	**V**	**VI**	**VII**	**VIII**	**IX**	**X**	**XI**	**XII**	**XIII**	**XIV**	**XV**
Homogeneidad y Heterogenidad	—														
		—	—	—	—										
				—	—	—	—								
							—	—	—	—					
								—	—	—	—				
											—	—			
													—		
														—	—

Leyenda: Las líneas continuas indican homogeneidad de los tratamientos.

Discusión

La planta del "maíz" es un residuo de origen lignocelulósico que es obtenida de las empresas desgranadoras de "maíz" durante el envasado el mismo. Según Cardona *et al.* (2009). El cultivo de "maíz" genera una gran cantidad de biomasa aérea, de la cual el 50% es cosechada en forma de grano, correspondiendo el resto a diversas estructuras de la planta. Estos residuos pueden ser procesados para obtener fibra altamente digerible para alimentación animal, carbohidratos para la producción de etanol o alimentos y proteínas para consumo humano (DDS Technologies, 2002). Sin embargo, en este proyecto se utilizó la planta de "maíz" (tallo y hojas) que es un recurso renovable potencial para la obtención de azúcares reductores destinados a procesos fermentativos. Pero lo más importante es encontrar el método a utilizar para lograr la hidrólisis de la celulosa.

Según Fabelo (1998), la biomasa lignocelulósica presenta una estructura compleja, cuya fracción mayoritaria es la celulosa. Este polisacárido está formado por largas cadenas de glucosa unidas entre sí por enlaces β (1-4) que a su vez se agrupan en estructuras superiores de gran cristalinidad, lo cual dificulta el proceso de hidrólisis enzimática por lo que es necesario realizar pretratamientos de la biomasa.

En este trabajo se realizaron métodos de hidrólisis ácida y básica con H_2SO_4 y NaOH respectivamente. Lázaro *et al.* (1994), afirman que la hidrólisis básica es recomendable cuando se precisa hacer un pretratamiento del material lignocelulósico como paso previo a una hidrólisis enzimática puesto que la acción del NaOH es lograr solubilizar parcialmente la lignina produciendo hinchamiento de la biomasa lo que conduce a un aumento del área superficial interna y descenso de la cristalinidad dejando así más accesible la celulosa a la acción enzimática; razón por la cual, su actividad extractante de azúcares reductores como la glucosa es mucho menor que la de los ácidos, hecho que ha sido corroborado por los resultados obtenidos en el presente trabajo, los mismos que indican que el H_2SO_4 logra realizar una mejor extracción de azúcares reductores de la planta de "maíz" que el NaOH.

Según Larsson (2000), la hidrólisis ácida transforma las cadenas de polisacáridos que forman la biomasa en sus monómeros elementales y puede utilizarse ácidos concentrados con los cuáles se puede obtener alto rendimiento de hidrólisis pero tiene la desventaja de un costo elevado y la demanda de una etapa de neutralización de la fracción líquida obtenida lo cual aumenta aún más el costo del proceso. Es posible emplear ácidos diluidos como se realizó en este trabajo, lo cual disminuyen el costo del proceso, pero se requieren altas temperaturas para alcanzar rendimientos aceptables de conversión de celulosa a glucosa, por lo que se realizó la hidrólisis mixta, es decir, la hidrólisis química seguida de la hidrólisis física, utilizando H_2SO_4 y colocando al autoclave la muestra respectivamente.

El efecto de la temperatura produce la alteración física de las fibras lignocelulósicas, ocasionando separación y ruptura de las mismas, mientras que, los ácidos pueden despolimerizar y lograr la ruptura de enlaces liberando así los monómeros que los constituyen.

Según Sun y Cheng (2002), el efecto mecánico está causado por la rápida despresurización que provoca evaporación del agua interna, creando fuerzas de cizalladura que producen la separación de

las fibras, principalmente de las regiones más débiles (celulosa amorfa). Esto puede explicar los resultados los cuáles indican que al realizar la hidrólisis "mixta" se obtuvo mayor concentración de azúcares, de concentraciones 84,18 g/L y 82,94g/L, correspondiente al tratamiento N° 7 (T_7) y al tratamiento N° 4 (T_4) respectivamente.

Estos resultados son muy aceptables al ser comparados con los estudios realizados por Urbaneja *et al.* (1997) que reportan entre 5,2 y 8,6 g/L al hidrolizar la pulpa del "café", a los señalados por Gonzáles *et al.* (1986) en la hidrólisis de la paja de "trigo" con H_2SO_4 al 2% con lo cual se obtuvieron 2,0 g/L de azúcares reductores en equivalentes de glucosa y a los estudios realizados por Bardales *et al.* (2009) al realizar diferentes métodos de hidrólisis de la "peladilla" de "espárrago" lo cual se obtuvo 7 g/L de azúcares reductores totales.

Conclusiones

La planta de *Zea mays* (Poaceae) "maíz amarillo duro" sometida a hidrólisis mixta (métodos físico-químico) presenta buena cantidad de ART lo cual puede utilizarse como fuente de energía renovable en procesos fermentativos para la producción de bioetanol y biomasa microbiana.

Agradecimientos

A los maestros y personal técnico del Departamento de Química Biológica y Fisiología Animal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo por el apoyo brindado para la ejecución de este trabajo.

Literatura citada

Ballesteros, I. 2000. Obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica mediante un proceso de sacarificación y fermentación simultánea (SFS). Tesis doctoral. Universidad de Alcalá de Henares. España.

Bardales, C.; C. Torres; J. Mostacero; J. Arellano; C. Rodríguez; O. Pretel & M. Salazar. 2009. Extracción de azúcares reductores totales ART de "peladilla" de *Asparagus officinalis* "espárrago". Arnaldoa 16 (1): 69-73.

Cardona, A. C.; T. O. Sánchez; M. M. Rodríguez & Q. J. Suárez. 2005. Producción de etanol carburante: material lignocelulósico una nueva alternativa. Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente, núm. 3, 2005, pp. 47-55. Colombia.

DDS Technologies. USA, 2002. Disponible endds: www.ddstechusa.com/spanish/corn.htm

Doelle, H. W.; D. A. Mitchell & C. Rolz. 1992. Solid substrate cultivation. Elsevier science publisher Ltd. Great Britain.

Fabelo, J. 1998. Determinación de los costos de producción de la etapa de fermentación alcohólica con utilización de diferentes sustratos. Rev. Centro Azúcar. 3,12-15.

González, G.; J. López Santón; G. Caminal & C. Sola. 1986. Dilute acid hidrolysis of wheat straw hemicellulose at moderate temperatura: A simplified kinetic model. Biotecnology and biongenering. 28:288-293.

Gray K. S, Zhao L. & M. Emptage. 2006. Bioethanol. Curr. Opin. Chem. Biol. 10:141-146.

Islas J.; F. Manzini & O. Masera. 2006. A prospective study of bioenergy use in Mexico. Energy. 32: 2306-2320.

Larsson, S. 2000. Ethanol from lignocellulose-Fermentation inhibitors, detoxification and genetic engiuneering of saccharomyces cerevisege for enhenced resistente. Tesis dostoral. Lund. Suecia.

Lázaro, L. & J. Arauzo. 1994. Aprovechamiento de residuos de la industria de conservas vegetales. Hidrólisis enzimática. Universidad de Zaragoza. Zaragoza. España.

Lynd, L.; P. Weimer; W. van Zyl & I. Pretorius. 2002. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 3: 506–577.

Mesa- Garriga, L.; M. Morales-Zamora; E. González-Suárez & E. Castro. 2013. Estrategia de reconversión de la industria diversificada de la caña de azúcar para la producción conjunta de bioetanol y coproductos. Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia, (66), 189-198. Retrieved February 13, 2017.

Oliva, D. J. 2003. Efecto de los productos de degradación Originados en la explosión por vapor de Biomasa de chopo sobre *Kluyveromyces marxianus.* Tesis Doctoral. 160 páginas. ISBN: 84-669-1709-8.

Portal Informativo de La Libertad. 2009. La Libertad lidera producción de "espárragos", "maíz" y "trigo". La Libertad-Perú.

Sun y Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. Bioresurce Technology. 83: 1-11.

Urbaneja, G.; J. Ferrer; G. Páez; L. Arenas de Moreno; G. Coloina & L. Sandoval. 1997. Hidrólisis ácida y caracterización de carbohidratos de la pulpa de café revista de la facultad de Agronomía (LUZ). Universidad de Zulia. Maracaibo. Venezuela. 14: 265-275.